Herrn
Dr. med. H. Dehio
in Hochachtung
d. Vf.

Lane Medical Library

Ueber die

Entstehung der Gallensäuren

und die

Beteiligung der Leberzellen bei diesem Process.

Von

Bruno Kallmeyer.

Dorpat.
Schnakenburg's Buchdruckerei.
1889.

Ueber die

Entstehung der Gallensäuren

und die

Beteiligung der Leberzellen bei diesem Process.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades

eines

Doctors der Medicin

verfasst und mit Bewilligung

Einer Hochverordneten Medicinischen Facultät der Kaiserlichen Universität

zu Dorpat

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

Bruno Kallmeyer.

Ordentliche Opponenten:

Priv.-Doc. Dr. **F. Krüger.** — Prof. Dr. **K. Dehio.** — Prof. Dr. **A. Schmidt.**

Dorpat.

Schnakenburg's Buchdruckerei.

1889.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.

Referent: Professor Dr. A. Schmidt.

Dorpat, den 15. November 1889.

No. 496. Decan: **Dragendorff.**

Meinen Eltern

in Liebe und Dankbarkeit

gewidmet.

Vorliegende Untersuchungen wurden auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. Alexander Schmidt, Magnificenz, ausgeführt.

Bei Veröffentlichung derselben gereicht es mir zur angenehmen Pflicht, meinem verehrten Lehrer den verbindlichsten Dank für vielfache Anregung, sowie für die mir liebenswürdigst geleistete Unterstützung auszusprechen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154018_0064

Die Kenntnis der Gallensäuren verdanken wir den Untersuchungen von Strecker[1]), welcher dieselben 1847 und 1848 in Liebigs Laboratorium entdeckte und die bis dahin unter dem Namen der Gallenharze bekannten Producte der Leberthätigkeit als N-haltige Glycocholsäure und als S-haltige Taurocholsäure, beide an Natron gebunden, schied und darstellte.

In der darauf folgenden Zeit waren die Gallensäuren häufig der Angriffspunct für Untersuchungen, welche aber nichts Positives über ihre Herkunft zu Tage förderten; es herrschten die differentesten Ansichten über ihren Entstehungsort, und sie selbst wurden nicht nur in der Gallenflüssigkeit, sondern auch im normalen Harn[2]), im Chylus des Hundes[3]) und in den Nebennieren[4]) gefunden.

---

1) Untersuchungen über die chemische Constitution der Hauptbestandteile der Ochsengalle. Habil.-Schrift, Giessen 1848 und Annalen der Chemie und Pharmacie LXII pag. 205.

2) Naunyn, Beiträge zur Lehre vom Icterus, in Reicherts und Du Bois-Reymond's Archiv 1868, pag. 429. — Vogel, Deutsche Klinik 1872 Nr. 41. — Dragendorff, Untersuchungen aus d. Pharmac. Institut zu Dorpat 1868. — Höne, Dissert. Dorpat 1873.

3) Tappeiner, Sitzungsbericht der bayr. Academie 4. April; München 1878. cit. nach Hermann's Handb. d. Phys. 1880.

4) Cloez und Vulpian, Compt. rend. Paris 1857. Th. II, pag. 340. -- Virchow, in seinem Archiv, B. XII, 1857.

Erst als die an Fröschen vorgenommene Exstirpation der Leber [1]) keine Anhäufung der Gallensäuren im Blute ergeben hatte, als der Gallenstrom bis an seine Quelle, bis zur Leberzelle verfolgt [2]), und endlich noch ein mikrochemischer Nachweis der Gallensäuren in den Leberzellen [3]) geführt worden war, waren sichere Anhaltspuncte für den Entstehungsort derselben gegeben, aber die Frage, in welcher Weise die Bildung der Gallensäure erfolge, und aus welchen Stoffen die Leberzelle das Rohmaterial dazu beziehe, war nicht um einen Schritt näher gerückt.

Dass die N- und S-haltigen Paarlinge der Cholsäure, das Glycin und das Taurin ihren Ursprung aus dem Eiweiss nehmen müssen war a priori vorauszusetzen und wurde durch die Erfahrung von Bidder und Schmidt [4]), dass reichliche Eiweisskost die Gallensecretion steigere wahrscheinlich gemacht; es war aber zweifelhaft, erstens, ob der Eiweisskörper des Hämoglobin hierbei in Betracht komme oder das Serumalbumin und zweitens, unter welchen Bedingungen und in welcher Weise diese Umsetzung erfolge.

Diese Frage ist in ein neues Licht getreten, seitdem E. Anthen [5]) vor wenigen Monaten seine unter Leitung von Herrn Prof. Al. Schmidt ausgeführten inte-

---

1) Joh. Müller, Kunde, Moleschott.

2) Asp, Arbeiten aus der Physiolog. Anstalt zu Leipzig. Mitget. v. Ludwig, Achter Jahrg. 1874 pag. 124.

3) Baum, Deutsche Zeitschrift für Tiermedicin u. vergl. Pathologie. B. 12, pag. 274.

4) Bidder und Schmidt, die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel. Mitau und Leipzig 1852.

5) Emil Anthen, Ueber die Wirkung der Leberzellen auf das Hämoglobin. Inaug. Dissert. Dorpat, Mai 1889.

ressanten Experimente mitgeteilt hat. Dieselben sind der Ausgangspunct nachfolgender Untersuchungen gewesen.

Anthen nämlich führte den Nachweis, dass die, nach der von ihm angegebenen Methode, gereinigten Leberzellen bei Gegenwart von Glycogen das Hämoglobin vollständig zerstören unter beträchtlicher Vermehrung des Farbstoffgehaltes der Zellen; er erklärt es aber auch für unwahrscheinlich, dass aus dem zersetzten Hämoglobin nur Leberzellenpigment und nicht auch andere wesentliche Gallenbestandteile entstehen sollen; er weist namentlich darauf hin, dass es jetzt möglich erscheine, Aufklärung über die Entstehung der N-haltigen Gallenbestandteile zu erlangen, indem man feststellt, ob nach experimentell erzeugter Zersetzung des Hämoglobin durch gereinigte Leberzellen Gallensäuren im Zellenbrei auftreten, resp. an Menge gegen früher zunehmen.

Von diesem Gesichtspuncte ausgehend, wurden die gleich zu beschreibenden Versuche in Angriff genommen, und da die betreffenden Zellenbreimischungen erst zur Untersuchung kommen konnten, nachdem sie allen jenen von Anthen[1]) ausführlicher beschriebenen Manipulationen und Reinigungsprocessen unterworfen worden, so war ich in der Lage die wesentlichsten seiner Resultate zu controlieren und zu bestätigen.

Bevor ich zu den eigentlichen Versuchen übergehe, schicke ich einige Angaben über die zur Verwendung gekommenen Materialien, nämlich Leberzellen, Hämoglobin und Glycogen voraus.

---

1) l. c.

1) Gewinnung und Eigenschaften des Leberzellenbreies. Frische, noch warme Lebern von eben geschlachteten 4—6 Wochen alten Kälbern[1]) waren sofort nach Herausnahme des Organs aus der Bauchhöhle von ihren Gallenblasen getrennt worden und wurden nun in 0,6% Kochsalzlösung gewaschen und in Scheiben zerlegt. Beide Flächen der letzteren wurden mit einem Messer abgeschabt und so ein Brei gewonnen, welcher sofort in phys. (0,6%) Kochsalzlösung gebracht wurde. Bei den ersten Versuchen verfuhr ich dann in der Weise, dass ich das Gemenge umschüttelte und die mitgewonnenen, specifisch schwereren Gewebsfetzen sich absetzen liess. Die darüber stehende blutig gefärbte Flüssigkeit mit den in ihr verteilten Leberzellen wurde darauf vorsichtig abgegossen und stehen gelassen; es hatten sich dann in 6—18 h. die Zellen auf den Boden des Gefässes gesenkt, die darüber stehende Flüssigkeit wurde abgegossen, mehrfach durch 0,6% NaCl-lösung erneuert und dieses Verfahren so oft wiederholt, bis die kochsalzhaltige Waschflüssigkeit ihren blutigen Character vollständig eingebüsst hatte und eine farblose, schwach opalescierende Flüssigkeit darstellte, in der spektroskopisch nur Spuren von Blutfarbstoff noch nachzuweisen waren.

Nachdem auch diese Flüssigkeit, so weit als möglich, abgegossen war, wurden die zurückgebliebenen, wieder in physiologischer Kochsalzlösung verteilten

1) Kalbslebern wurden nach dem Vorgange von Schwartz und Anthen benutzt, besonders um die Versuche des Letzteren genau und in derselben Weise zu wiederholen. Ich bin aber geneigt anzunehmen, dass ich bei Benutzung von Lebern des erwachsenen Rindes zu noch ausgesprocheneren Resultaten gekommen wäre.

Leberzellen auf die Centrifuge gebracht und dort solange mit immer neuen Mengen derselben Salzlösung ausgewaschen, bis die spektroskopische Untersuchung der Waschflüssigkeit keine Spur eines Blutfarbstoffgehaltes mehr ergab.

Anmerkung. Ich möchte an dieser Stelle erwähnen, dass die letzte Waschflüssigkeit in den Centrifugengläsern in den meisten Fällen absolut klar war und kein Glycogen enthielt. Von den Zellen möchte ich aber das Letztere nicht behaupten. Ich habe einmal experimenti causa eine Portion Zellenbrei 13 Stunden centrifugieren lassen und in dieser Zeit 10 Mal die Salzlösung erneuert. Bei dieser forcierten Manipulation empfing ich den Eindruck, dass ein lange andauerndes Centrifugieren, verbunden mit häufigem Auswaschen der Zellen, imstande ist, denselben ein Quantum Glycogen zu entziehen, welches sie sonst nicht so leicht abgeben. Für diese Ansicht scheint auch die Erfahrung v. Wittich's zu sprechen, der hervorhebt, wie ausserordentlich schwierig es ist, aus der Leber durch wiederholtes Auskochen alles Glycogen zu gewinnen.

Auch diese letzte Waschflüssigkeit wurde nun abgegossen und der am Boden der Gläser gewonnene Zellenbrei gesammelt.

Er war von halbflüssiger Consistenz und gelbbräunlicher Farbe, bestand bei mikroskopischer Betrachtung aus dichten Massen wohlerhaltener Leberzellen und enthielt nur sehr wenig Detritus.

Im Durchschnitte ergaben so 100,0 Grm. Lebersubstanz c. 18—20,0 Grm. Zellenbrei.

Wenn ich bei den ersten Versuchen die unliebsamen Gewebsfetzen in obiger Weise durch Dekantieren von den Zellen getrennt hatte, so war ich hierbei nach Anthen verfahren; später überzeugte ich mich aber, dass Herr Priv.-Doc. Dr. F. Krüger, Assistent am hiesigen physiologischen Laboratorium bei anderen Versuchen dasselbe Resultat in kürzerer Zeit

erzielte, indem er die primäre Kochsalzlösung mit dem in ihr verteilten Zellenbrei durch ein Tuch seihte, dieses auspresste und die durchgeseihte Flüssigkeit mit den in ihr verteilten Leberzellen in oben geschilderter Weise weiter behandelte.

Die Gewebsfetzen werden so mit einem Male zurückgehalten und der Verlust an Zellen ist ein geringerer. Ich nahm Veranlassung, bei späteren Versuchen in derselben Weise zu verfahren.

Die so gewonnenen Zellen erwiesen sich, wie aus den Versuchen zu ersehen sein wird, noch nach einer Woche als thätig; d. h. sie übten Wirkungen aus, welche wir, wenn wir sie innerhalb des Organismus beobachten könnten, als auf den Lebensthätigkeiten der Zellen beruhend anerkennen würden, wie dies Anthen in seiner Schrift mit folgenden Worten hervorhebt: „die Zelle überdauert das Organ und leistet, indem sie eine selbständige Existenz ausserhalb desselben fortführt auch Aehnliches wie unter normalen Verhältnissen, sofern es nur gelingt, sie unter Bedingungen zu bringen, welche denen ähnlich sind, die an dem Orte herrschen, woher sie genommen wurde."

2) Die Hämoglobinlösung, welche in den Versuchen zur Anwendung kam, war eine möglichst concentrierte. Sie wurde jedesmal frisch aus einem Vorrat in der Kälte aufbewahrter, vom Pferde stammender Blutkrystalle bereitet, deren Darstellung nach der A. Schmidt'schen Methode Herr Priv. Doc. Dr. Krüger freundlichst übernommen hatte.

3) Das Glycogen[1]), das zur Verwertung kam, wurde in Wasser gelöst und in dem Verhältnis der

1) Das Präparat war aus Grübler's physiol.-chem. Laborat. in Leipzig bezogen.

Hämoglobinlösung zugesetzt, dass letztere 0,6 % Glycogen enthielt.

Den Versuchen, durch welche die gestellte Aufgabe gelöst werden sollte, wurden zwei Vorversuche vorausgeschickt, deren Zweck war, zu ermitteln, ob die gereinigten Leberzellen an sich schon Gallensäuren enthielten und wenn, so in welcher Menge.

Versuch I.

26./VIII. 89. Zu dem Behufe wurden 180,0 Zellenbrei in 3 Teile, zu $^1/_4$, $^1/_4$ und $^1/_2$ geteilt. — Das erste Viertel mit grossen Mengen absol. Alkohols kalt angesetzt und häufig umgeschüttelt; das zweite Viertel mit ebenso grossen Mengen absol. Alkohols gekocht und die übrig bleibende Hälfte mit dem 10fachen Volumen einer kochenden 1 % Kochsalzlösung extrahiert.

Das Resultat war, dass der kalte Alkohol des ersten Viertels sich als cholesterin = und gallensäurehaltig erwies; der heisse Alkohol des zweiten Viertels hatte dieselben Substanzen extrahiert, und endlich der wässerige Auszug der letzten Hälfte enthielt gallensaures [1]) Natronsalz.

Versuch II.

6./IX. 89. Dieser wurde angestellt in der Absicht, die beim vorigen Versuche in den Leberzellen

2) Ich schreibe gallensaures Salz, weil ev. vorhandene Taurocholsäure etc. bei diesem, so wie bei allen anderen Versuchen völlig unberücksichtigt gelassen wurde. Ebenso wenig fanden die Gallenfarbstoffe eine Berücksichtigung.

constatierten Gallenbestandteile isoliert darzustellen. Es wurde zu diesem Zwecke eine Gesamtmenge von 130,0 Leberzellenbrei in folgender Weise einer successiven, dreifachen Extraction unterworfen: Der Brei wurde zuerst mit dem 10fachen Volumen einer 1% NaCl-lösung gründlich ausgekocht und dieses Decoct, welches ich der Kürze wegen als wässeriges oder primäres Leberzellenextract bezeichnen werde, vom Zellenbrei abfiltriert.

Der Filterrückstand wurde gesammelt, in einen Glasballon gebracht, mit c. 1 Liter kaltem absolutem Alkohol übergossen und mehrere Tage hindurch unter häufigem Umschütteln extrahiert. Das so gewonnene secundäre oder kalt-alkoholische Leberzellenextract wurde nun abfiltriert und der Filterrückstand zum letzten Male und zwar mit heissem Alkohol ausgezogen und dieser Auszug nach dem Filtrieren als tertiäres oder heiss-alkoholisches Leberzellenextract bezeichnet.

Das primäre Extract ist opalescierend und von saurer Reaction; es wird zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Alkohol extrahiert, abfiltriert, dann das Filtrat wieder eingedampft und der Rückstand nochmals in Alkohol aufgenommen und auf ein kleineres Volumen eingeengt. Diese Lösung wird dann mit grossen Mengen Aether versetzt, worauf sich ein Niederschlag ausscheidet, welcher auf dem Filtrum gesammelt wird und sich bei näherer Untersuchung als gallensaures Natron erweist.

Das secundäre Extract wird auf ein Quantum von 100,0 eingeengt. In der Kälte scheidet sich ein krystallinischer Niederschlag aus, welcher aus gal-

lensaurem Natron (wenig), reiner Glycocholsäure und Cholesterin besteht.

Das tertiäre Extract wird ebenfalls auf ein kleineres Volumen eingedampft und stellt im Gegensatz zum vorigen grüngefärbten eine wasserklare Flüssigkeit dar. Beim Stehen des unbedeckten Glases scheiden sich nach einigen Tagen allmählich prachtvolle Krystalle aus, welche alle Eigenschaften der reinen Glycocholsäure besitzen. Die darüberstehende Flüssigkeit enthält noch etwas Cholesterin.

Es ergab sich also aus diesem Versuch, dass die Leberzellen normal Gallensäuren enthalten, von welchen ein Teil bereits an Alkalien gebunden ist; das Factum aber, dass in der Galle nur an Alkalien gebundene Gallensäuren vorkommen, scheint dafür zu sprechen, dass die Leberzelle diese Säuren nicht anders als in Form von Alkalisalzen ausscheidet, wenn man nicht etwa annehmen will, dass die zugleich mit den Gallensalzen von der Leberzelle ausgeschiedenen Gallensäuren erst auf dem Wege von der Leberzelle zur Gallenblase ihr Alkali erhalten.

Da aber aus diesem Vorversuche noch ersichtlich ist, dass der kalte und der heisse Alkohol ungefähr die gleichen Bestandteile aus der Leberzelle extrahierten, so wurden bei den weiteren Versuchen stets bloss zwei Auszüge vorgenommen und zwar ein heisser wässeriger, primärer und ein heisser alkoholischer, secundärer Auszug.

Ich gehe jetzt zum Referate über meine beiden Versuche über, möchte aber vorher noch einer Beobachtung Erwähnung thun, welche ich gelegentlich dieser Vorversuche machte und welche insofern von

Interesse und Wichtigkeit ist, als man durch sie ein Mittel besitzt die Glycocholsäure in alkoholischer Lösung sofort von der Cholalsäure zu unterscheiden. Setzt man nämlich zu einem geringen Quantum einer alkoholischen Glycocholsäurelösung Wasser hinzu und zwar nur sehr wenig, so wird die Lösung sofort milchig trübe; wartet man nun ein paar Augenblicke und verdünnt sie dann, so bleibt sie trübe. Wird dagegen von vornherein viel Wasser auf einmal hinzugefügt, so erhält man eine durchsichtige opalescierende Lösung, welche sich weiter nicht verändert.

Soviel mir bekannt, ist ein solches Verhalten der Glycocholsäure gegen Wasser in der Litteratur noch nicht erwähnt, und diese Reaction scheint zuverlässig zu sein, denn sie gelang mit Präparaten verschiedenster Herkunft stets mit derselben Präcision.

Bei der Cholalsäure macht man zunächst dieselbe Erfahrung, aber sehr bald gleicht sich der Unterschied aus, indem die, nach der ersten Methode behandelte, anfangs ebenfalls trübe Lösung durchsichtig und opalescierend wird, wie die sogleich mit viel Wasser verdünnte Lösung es von vornherein war.

Erster Versuch.

26./IX. 89. 460,0 Grm. Zellenbrei, welcher aus zwei Kalbslebern gewonnen war, werden nach mehrfachem Umrühren in zwei gleiche Teile geteilt.

Der erste Teil wird mit dem doppelten Volumen, also mit 460,0 Grm. Hämoglobinlösung von 0,725% Trockenrückstand versetzt und diesem Gemenge 2,6 Grm. Glycogen, in 50,0 Cc. Wasser gelöst, zugesetzt. Dem Zellenbrei waren also im Ganzen 510,0 Grm. Flüssigkeit zugesetzt worden und der Gehalt dieser Flüssigkeit an Hämoglobin betrug 3,335 Grm.

Der zweite Teil wird mit 510,0 Grm. einer 0,6% Kochsalzlösung vermengt.

Jede dieser beiden Portionen wird in ein breites Becherglas gebracht und unbedeckt im Zimmer, also bei ca. 15° R. durchschnittlicher Temperatur stehen gelassen und täglich mehrmals umgerührt. Während nun der mit der Kochsalzlösung versetzte Teil nach 4 Tagen einen nicht mehr ganz frischen Geruch aufwies, zeigten sich in der mit Hämoglobin und Glycogen versetzten Portion in dieser Beziehung keine Veränderungen, wohl aber andere, welche bereits Anthen constatiert

hat. Die über den Zellen befindliche Flüssigkeitsschicht hatte am 2. Tage ihre schöne blutrote Farbe verloren und war heller, pomeranzenschalenbraun, die Zellenschicht aber dunkler geworden. In den nächsten Tagen wurde die Flüssigkeitsschicht in dem Masse heller und verlor ihren Hämoglobingehalt, als die Zellenschicht dunkler wurde, sodass erstere am 5. Tage ein hellgelbgrünliches Aussehen hatte, während letztere einen kaffesatzbraunen Niederschlag darstellte, welcher, mikroskopisch untersucht, aus stark pigmenthaltigen Leberzellen bestand. An diesem Tage waren in der Flüssigkeitsschicht spectroskopisch keine Hämoglobinstreifen mehr zu entdecken, während die Controllösung noch immer schön rot war, aber schon deutlich Methämoglobinstreifen wahrnehmen liess.

Die chemische Umsetzung wurde nun als beendigt angesehen und jeder der beiden Becherinhalte für sich und parallel dem andern, genau in derselben Weise in Behandlung genommen.

Wenn ich in Folgendem den schon oben im Princip angegebenen Modus der Extraction und Darstellung der Gallenbestandteile recapituliere, so geschieht dies, weil das Verfahren hier geringe Modificationen erfuhr und einige Zahlenwerte angeführt werden sollen, welche sonst nicht gut verständlich sein würden.

Portion I (mit Hämoglobin) und **Portion II** (ohne Hämoglobin) des ursprünglichen Zellenbreies werden jede auf das zehnfache Volumen einer 1procentigen Kochsalzlösung, also auf 2300,0 Grm. gebracht. Der Kochsalzzusatz geschah, um das Zusammenballen der beim Kochen gerinnenden Eiweissmassen zu befördern und dadurch das Filtrieren zu erleichtern. Die

beiden, in dieser Weise vorbereiteten Präparate wurden nun 3 Stunden hindurch auf dem Dampfbade erhitzt und das Decoct heiss filtriert; die Filterrückstände werden noch mit 850,0 einer 1% Kochsalzlösung ausgewaschen und dieses Quantum zu dem entsprechenden Filtrat hinzugefügt. Ich werde der Kürze wegen die Filtrate mit **I A'** (aus dem Präparate mit Hämoglobin) und **II A** (aus dem Präparat ohne Hgb.) bezeichnen, während die Filterrückstände **I B** resp. **II B** benannt werden sollen.

I A und **II A** werden nun zur Trockne eingedampft, die Rückstände verrieben und mit viel heissem Alkohol mehrfach extrahiert und filtriert, bis in einer Probe des Filtrates durch Pettenkofer's Reaction keine Gallensäuren mehr nachzuweisen sind.

Die alkoholische Lösung wird nun wieder ganz abgedampft und der jetzt erhaltene Rückstand zum zweiten Male in einem kleinen Quantum heissen absoluten Alkohols, nämlich in 50,0 Ccm. aufgenommen. — Die von I A stammende Flüssigkeit ist bedeutend dunkler gefärbt, als die aus II A gewonnene.

Von jeder dieser beiden Flüssigkeiten werden je 5,0 Cc. abgehoben und in gewogenen Platintiegeln auf dem Dampfbade allmählich eingedampft, die Rückstände bei 80—90° mehrere Tage lang getrocknet und dann gewogen. Die Wägung ergiebt, dass das Gewicht des Trockenrückstandes der von I A gewonnenen Probe mehr als zweimal so gross ist, wie dasjenige der Probe von II A:

Probe I A = 0,3550 Grm.
Probe II A = 0,1460 Grm.

Es enthielten also die ganzen Flüssigkeiten an fester Substanz in

I A = 3,55 Grm.

II A = 1,46 Grm.

Die Trockenrückstände von I A und II A verhielten sich also wie 100 : 41,1.

Die Trockenrückstände der beiden Proben wurden nun wieder vollkommen in Alkohol gelöst, mit dem Uebrigen vereinigt, die Flüssigkeiten mit Alkohol bis auf je 135,0 Ccm. gebracht und mit je 225,0 Ccm. Aether zur Fällung der gallensauren Alkalien versetzt.

Die Niederschläge werden auf je einem getrockneten und gewogenen Filtrum gesammelt, mit wenig Aether gewaschen, getrocknet und gewogen.

Der Aether hatte gefällt aus

I A = 2,279.

II A = 1,038.

Es verhielten sich also die Niederschläge von

I A : II A = 100 : 45,5.

Von zwei ganz gleichen Mengen desselben Leberzellenbreies, enthielt also diejenige, in welcher Hämoglobin bei Gegenwart von Glycogen zersetzt worden war, bei der angegebenen Behandlung (alkoholischer Auszug aus dem Rückstand des heissen wässerigen Extractes) mehr als das Doppelte an fester Substanz in Relation zu dem Vergleichspräparat. — Dasselbe gilt von dem im alkoholischen Auszug durch Aether erzeugten Niederschlage (gallensaures Alkali). Offenbar hatten aber neben den gallensauren Salzen auch noch andere Bestandteile der Leberzelle eine Vermehrung erfahren. Auf eine Bestimmung und Untersuchung letzterer habe ich mich jedoch nicht eingelassen. —

Ich gehe jetzt zu den auf pag. 13 verlassenen Filterrückständen **I B** und **II B** über.

Sie werden in Kolben gebracht und auf dem Sandbade 2 Mal sorgfältig mit grossen, aber gleichen Mengen heissen Alkohols extrahiert; die Flüssigkeiten, von welchen jede ein Volumen von 1000 Cc. angenommen hat, werden filtriert und dann auf 750,0 Cc. eingeengt. In der Kälte scheidet sich ein weisser Niederschlag aus, welcher bei I grösser zu sein scheint als bei II.

Er bestand, wenigstens zum Teil, aus Cholesterin. Die beiden Flüssigkeiten werden erwärmt, wobei der Niederschlag sich löst, dann auf je 280,0 Cc. eingeengt und von letzterer heisser, klarer Flüssigkeit 25,0 Cc. abgenommen, welche eingedampft, getrocknet und gewogen werden.

I B = 0,3070; II B = 0,2835
macht in 280,0 Cc. = 3,4384 und 3,1752.

Die Gesamttrockenrückstände der heissen alkoholischen Auszüge verhalten sich also wie 100 : 92,3. — Es waren so also noch 255,0 Cc. Flüssigkeit übrig geblieben. Sie werden auf 100,0 Cc. eingedampft und sind von saurer Reaction. In der Kälte scheidet sich wieder eine weisse körnig-krystallinische Masse aus. Nach einigen Tagen wird die Flüssigkeit von diesem Bodensatze abfiltriert, das Filtrat auf 40,0 Cc. eingedampft und mit dem doppelten Quantum Aether versetzt.

Es scheidet sich ein weisser körniger Niederschlag aus (Glycocholsäure); dieser wird ebenfalls auf einem getrockneten und gewogenen Filtrum gesammelt, mit

wenig Aether gewaschen und ergiebt nach dem Trocknen in

$$I = 0{,}266;\ II = 0{,}172$$
$$\text{oder } I : II = 100 : 64{,}6.$$

Nun wird auch noch der Aether-Alkohol des Filtrates durch sanftes Erwärmen entfernt; die Rückstände stellten beiderseits eine braune syrupöse, in der Kälte erstarrende Masse dar, welche Fette, Lecithin, Cholesterin etc. enthielt.

Zweiter Versuch.

12./X. 89. Drei frische noch warme Kalbslebern von 1330,0, 1100,0 und 700,0 Grm. Gewicht ergeben 560,0 Grm. gereinigten Zellenbrei, welcher nach tüchtigem Umrühren in 4 Teile geteilt wird.

Diese 4 Portionen werden nun in verschiedener Combination angesetzt.

Es kam mir nämlich nun auch darauf an, zu entscheiden, ob nur das Hämoglobin oder ob auch das Serumeiweiss eine Vermehrung der Gallensalze resp. Gallensäuren in den Leberzellen bewirke. Ich stellte also ein drittes Präparat her, welches ausser dem Hämoglobin noch einen Zusatz von Rinderblutserum erhielt.

Nun enthält aber das Blutserum alkalisch reagierende Salze und es könnte auch dieser Umstand die Bildung von Gallensäuren befördern resp. eine Vermehrung der Gallensalze bewirken (auf Kosten der freien Gallensäuren). Deshalb fügte ich zu der vierten Portion ausser Hämoglobin und Glycogen auch noch so viel kohlensaures Natron hinzu, dass das Gemenge $^1/_2$ Procent davon enthielt.

Aus diesem Gesichtspunkte entstanden die, in der folgenden Tabelle übersichtlich dargestellten, Präparate:

Portion I.		Portion II.	
	Grm.		Grm.
Zellenbrei	140,0	Zellenbrei	140,0
0,6 % Kochsalzlösg.	310,0	Hämoglobinlösung	230,0
Summe	450,0	0,6 % Kochsalzlösg.	80,0
		Summe	450,0

Portion III.		Portion IV.	
	Grm.		Grm.
Zellenbrei	140,0	Zellenbrei	140,0
Hämoglobinlösung	230,0	Hämoglobinlösung	230,0
10 % Kohlens. Natrls.	5,7	Rinderserum . . .	30,0
0,6 % Kochsalzlösg.	75,0	0,6 % Kochsalzlösg.	50,0
Summe	450,7	Summe	450,0

Zu jeder der drei letzten Portionen wurden noch 1,38 Grm. Glycogen hinzugesetzt.

Durch die verschiedenen Zusätze der 0,6 % Kochsalzlösung in II, III und IV sollten die sich aus den Combinationen ergebenden Unterschiede der Volumina ausgeglichen werden.

In den zu jedem Präparate hinzugefügten 230,0 Grm. Hämoglobinlösung waren enthalten 2,39 Grm. trockenes Hämoglobin (1,04 %). Im weiteren Verlaufe werde ich der Kürze wegen diese 4 Präparate mit den

über den betreffenden Tabellenstäben befindlichen römischen Zahlen bezeichnen.

Jede dieser Portionen wird in ein gleich grosses Becherglas gebracht, bei Zimmertemperatur stehen gelassen und täglich mehrmals umgerührt.

Die Zellschicht ist in II am voluminösesten, in III am meisten zusammengeschrumpft.

Die Einwirkung der Leberzellen auf den Blutfarbstoff wird auch dieses Mal in der bekannten Weise sichtbar. Nach 4 Tagen ist die Zersetzung des Hämoglobin beendet, die Flüssigkeit in sämtlichen vier Gläsern von frischem Geruch und schwach saurer Reaction. Es werden nun die Gemenge behufs wässriger Extraction mit je 1020 Ccm. einer 1 % Kochsalzlösung versetzt und auf dem Dampfbade gründlich erhitzt, dann abfiltriert und die Filterrückstände (B) mit je 450,0 warmen Wassers nachgespült, um event. noch vorhandenes Kochsalz aus denselben fortzuschaffen. Das Waschwasser wurde zum übrigen Filtrat hinzugefügt.

Das so gewonnene primäre oder

Wässerige Extract

wird nun zur Trockne eingedampft, der Rückstand solange mit 96° Alkohol verrieben und erwärmt, bis eine Probe keine Pettenkofer'sche Reaction mehr giebt, die alkoholische Lösung dann filtriert und abgedampft. Der jetzt erhaltene Rückstand wurde nun nochmals mit heissem absolutem Alkohol vollständig extrahiert und letzterer dann filtriert. Ich erhielt so ein Volumen von je 200,0 Ccm. Flüssigkeit, welche aber schon bald

ein wenig mitgelöstes Kochsalz ausschied und von diesem abfiltriert wurde.

Extract I ist am hellsten, III am dunkelsten und IV etwas dunkler als II.

Jede dieser Lösungen besass ein Volumen von 200,0 Cc. und wurde nun mit 550,0 Cc. Aether versetzt.

Der Aether-Alkohol wurde nach 18 Stunden vom am Boden fest haftenden Niederschlage (gallensaures Alkali) abgegossen, letzterer in Wasser aufgelöst, filtriert, eingedampft, im Luftbade bei 80° 5 Tage lang getrocknet und die Trockenrückstände zuerst für sich gewogen, darauf verkohlt, die Kohle mehrfach mit Wasser extrahiert, dieses durch ein aschefreies Filtrum abfiltriert, Filtrum und Kohle getrocknet, verascht, und die in Wasser löslichen und unlöslichen Salze gewogen und qualitativ bestimmt.

Die Gewichte der getrockneten Aetherfällungen betrugen in

I.	II.	III.	IV.
0,966	1,454	1,542	2,295

Die löslichen Aschenbestandteile dieser Rückstände waren: Kochsalz, Sulfate und Phosphate.

Die unlöslichen bestanden aus Spuren von Erdphosphaten und Eisen.

Die Aschengewichte sind aus der beigefügten Tabelle zu ersehen.

Der abgegossene Aetheralkohol wird ebenfalls durch sanftes Erwärmen concentriert, die Rückstände in derselben Weise wie oben getrocknet, gewogen, ver-

kohlt und verascht. Die resp. Gewichte der Rückstände betrugen in

I.	II.	III.	IV.
0,406	0,744	0,894	0,931

Die in Wasser löslichen Aschenbestandteile dieser Rückstände waren hier dieselben wie oben. Schwefelsaure Salze fanden sich besonders reichlich in III und IV. Ueber die Aschengewichte s. d. Tabelle.

Um auf die pag. 19 verlassenen Leberzellenrückstände B. zurückzukommen, welche nach Gewinnung des wässerigen Extractes auf den Filtren geblieben waren, so werden sie mehrfach mit gleichen Mengen heissen Alkohols ausgezogen, bis eine Probe des letzteren bei der Pettenkofer'schen Reaction keinen Gehalt an Gallensäuren mehr anzeigt. Das so erhaltene

Alkoholische Extract

hat ein Volumen von je ca. 500,0 Cc., wird filtriert und durch Erwärmen auf 100,0 Cc. condensiert. Von diesen werden je 10,0 Cc. abgehoben, auf dem Dampfbade eingedampft, getrocknet und gewogen.

Die Wägung ergiebt in

I.	II.	III.	IV.
0,1873	0,1958	0,2145	0,2275

Diese auf die Gesamtmenge von 100,0 Cc. bezogenen und daher mit 10 multiplicierten Zahlen sind in der Tabelle wiederzufinden. Es bleiben jetzt nur noch die 90,0 Cc. des alkoholischen Extractes übrig. Sie werden zuerst in Porzellanschalen, darauf in Platintiegeln allmählich eingeengt und dann in bekannter Weise verkohlt und verascht.

Die gefundenen Zahlenwerte mit 10% multipliciert geben den Gesamtgehalt der 100,0 Cc. des akoholischen Extractes an Aschen (vgl. Tabelle). Die in Wasser löslichen Aschenbestandteile waren auch hier Kochsalz, schwefelsaure Salze und Spuren von Erdphosphaten; die in Wasser unlöslichen enthielten etwas äusserst schwer verbrennliche Kohle, Spuren von Eisen, schwefelsauren Salzen und Erdphosphaten.

Tabelle der Trockenrückstände und Aschen beider Extracte des II. Versuches.

A. Wässeriges Extract.

	I.	II.	III.	IV.
1) Trockenrückstände.				
a) der Aetherfällung aus dem alkoholischen Auszuge des eingedampften wässerigen Extractes	0,966	1,454	1,542	2,295
b) in der von der Aetherfällung getrennten Aether-Alkohollösung	0,406	0,744	0,894	0,931
Summe der Gesamttrockenrückstände im wässerigen Extract	1,372	2,198	2,436	3,226
2) Aschengehalte der Trockenrückstände.				
In den Trockenrückständen **a.** In Wasser lösl. Aschen . . .	0,111	0,146	0,186	0,280
In den Trockenrückständen **a.** In Wasser unlösl. Aschen . . .	0,016	0,045	0,032	0,041
Summe der Aschen in den Trockenrückständen **a** . .	0,127	0,191	0,218	0,321
In den Trockenrückständen **b.** In Wasser lösl. Aschen . . .	0,034	0,044	0,055	0,038
In den Trockenrückständen **b.** In Wasser unlösl. Aschen . . .	0,002	0,004	0,006	0,012
Summe der Aschen in den Trockenrückständen **b** . .	0,036	0,048	0,061	0,050
Summe der Gesamtaschen im alkoholischen Auszug des zur Trockne eingedampften wässerig. Extractes	0,163	0,239	0,279	0,371
3) Procentgehalt.				
Der Trockenrückstände **a.** an Aschen	13,14	13,14	14,13	13,98
Der Trockenrückstände **b.** an Aschen	8,94	6,45	6,82	5,37
Der Gesamttrockenrückstände an Gesamtaschen	11,9	10,8	11,4	11,4

B. Alkoholisches Extract.

	I.	II.	III.	IV.
Gesamttrockenstände	1,873	1,958	2,145	2,275
Aschen { In Wasser lösliche	0,032	0,040	0,050	0,046
Aschen { In Wasser unlösliche	0,023	0,022	0,027	0,041
Summe der Aschen	0,055	0,062	0,077	0,087
Procentgehalt der Trockenrückstände an Aschen . .	2,9	3,1	3,5	3,8

C.

Summe der Trockenrückstände in beiden Extracten . . .	3,245	4,156	4,581	5,501
Summe der Aschen in beiden Extracten	0,218	0,301	0,356	0,458
Procentgehalt sämtlicher Trockenrückstände an Aschen	6,7	7,2	7,7	8,3

Schlussbemerkungen.

Es sei mir gestattet hier noch einige Verhältnisse, wie sie sich bei näherer Betrachtung der Tabelle ergeben, näher zu beleuchten.

Es ist begreiflich, dass zur Beantwortung der Frage über die Entstehung der Gallensäuren, in erster Linie die Zahlenwerte herangezogen werden müssen, welche die Aetherfällungen im alkoholischen Auszuge des Rückstandes vom wässerigen Extracte ausdrücken und sich in der ersten horizontalen Zahlenreihe der Tabelle befinden.

Es muss auffallen, in welch eigenthümlichem Verhältnis diese Zahlenwerte ansteigen.

Während das Gewicht der getrockneten Aetherfällung in der ersten Portion, welche keine Leberzellen enthielt = 0,97 Grm. ist, wächst es in der zweiten, die mit Hämoglobin und Glycogen vermengt war um 0,48, nimmt dann in der III. Portion, welche ausserdem noch kohlensaures Natron enthielt, nur um ein geringes (0,09) zu, und steigt in der IV. Portion, welche ausser Hämoglobin und Glycogen noch einen Zusatz von Serum erhalten hatte, um ein Maximum von 0,75 Grm., so dass die resp. Gewichte sich verhalten wie

1 : 1,50 : 1,59 : 2,36.

Wenn man nun diese Aetherfällungen als gallensaure Salze auffasst, was sie doch sicherlich sind, so ist man berechtigt zu behaupten, dass sowohl kohlensaures Natron, als noch mehr Serum die Entstehung dieser Stoffe unter den in meinen Versuchen angegebenen Bedingungen begünstigen. Ob aber das Serumeiweiss neben dem Hämoglobin das Rohmaterial zur Gallensäurebildung abgegeben, oder ob das Serum in irgend einer anderen Weise die Zersetzung des Hämoglobin begünstigt hatte, vermag ich nicht zu entscheiden. Es wäre in dieser Hinsicht zuerst festzustellen, ob eine Vermehrung der Gallensalze der Leberzelle durch Einwirkung von Glycogen und Serum allein bedingt wird. Die vorgerückte Zeit gestattete mir nicht einen solchen Versuch anzustellen.

Ich möchte noch darauf aufmerksam machen, dass die in Rede stehenden Trockenrückstände in allen 4 Portionen in annähernd constantem Verhältnis zu ihren resp. Aschen stehen.

Diese Trockenrückstände auf eine Decimalstelle reduciert, verhalten sich, wie bereits angegeben, wie

1 : 1,5 : 1,6 : 2,4.

Ihre Aschen aber verhalten sich wie

1 : 1,5 : 1,7 : 2,5.

Ich führe ferner an, dass wie die eben besprochenen Aetherfällungen, auch die Rückstände aus den alkoholischen Extracten in derselben Reihenfolge ansteigen, und so liesse sich noch auf manche andere Einzelheiten der Tabelle hinweisen. Die nähere Besprechung dieser Details liegt aber meinem Thema zu fern und ich übergehe sie deshalb.

Ich möchte aber noch einen anderen Gesichtspunkt andeuten.

Aus meinem ersten Versuche ist ersichtlich, dass die Vergleichsportion, welche aus reinen Zellen und physiol. Kochsalzlösung bestand, 4 Tage nach Beginn des Versuches, d. i. circa 6—7 Tage nach Entfernung der Lebern aus der Bauchhöhle der Tiere, einen schwach fauligen Geruch angenommen hatte; ich habe an jener Stelle auch betont, dass die andere Portion, welche Hämoglobin und Glycogen enthielt in dieser Beziehung keine Veränderung zeigte, — sie hatte einen frischen tierischen Geruch bis zu dem Tage, wo sie behufs Untersuchung in Arbeit genommen wurde.

Wenn nun die Zellen der ersten Portion erst am vierten Tage nach Beginn des Versuches, oder am 6.—7. Tage nach Schlachtung des Kalbes in Fäulnis überzugehen begannen, so geschah dies offenbar zunächst, weil sie sich in physiologischer Kochsalzlösung befanden und dann, weil die Gallensäuren antiseptisch wirkten. — In der andern Portion, welcher statt der physiologischen Kochsalzlösung ein gleiches Volumen (0,6 % Glycogen enthaltender) Hämoglobinlösung zugesetzt worden war, trat bis zum letzten Tage keine Fäulnis ein, obgleich doch hier viel günstigere Bedingungen für die Fäulnis gegeben zu sein scheinen.

Da nun bis heute weder vom Hämoglobin, noch vom Glycogen antiseptische Eigenschaften bekannt sind, so schliesse ich aus obigen Umständen, dass unter dem Einfluss der vermehrten Gallensäuren die Fäulnis hintangehalten wurde.

Ich betone noch besonders, dass irgend ein Unterschied in der Behandlung beider Bechergläserinhalte

(des I. Versuches) in keiner Weise stattgefunden hat; sie standen genau unter denselben Bedingungen am selben Orte, in gleich hohen und breiten Gläsern und wurden beide genau um dieselbe Zeit und mit gleicher Häufigkeit umgerührt.

Beim zweiten Versuche war die Zersetzung des Hämoglobin überall beendet, bevor es zur schwachen Fäulnis des Controllpräparates I gekommen war; ich glaube aber, es wäre mir in diesem Falle bei weiter fortgesetzter Beobachtung wol gelungen, den Nachweis zu liefern, dass in derselben Weise und in demselben Sinne, wie der Gehalt der Präparate an Gallensalzen wuchs, auch die Fäulnis der einzelnen Objecte der Reihe nach eingetreten wäre.

Schliesslich möchte ich noch darauf hinweisen, dass in dem Modus der Darstellung des Zellenbreies, wie er am hiesigen physiologischen Institut zuerst angewandt wurde und sich weiter ausgebildet hat, uns ein Mittel an die Hand gegeben ist, Zelleigenschaften und Zellthätigkeiten direct und möglichst fehlerfrei zu studieren.

Es unterliegt keinem Zweifel, dass diese, noch wenig bekannte Methode berufen, ist in Zukunft eine Rolle zu spielen und wie bei der Leber, so mit gleichem Erfolge bei anderen Organen wird angewandt werden.

Dorpat, Physiologisches Institut, 13./1. November 1889.

Thesen.

1. Eine täglich vorgenommene, sorgfältige Desinfection der Speibecken und der in ihnen enthalten gewesenen Sputa Lungenkranker ist ein Postulat für alle Hospitäler.
2. Ueberhitzter Wasserdampf ist hierzu am geeignetsten.
3. Mütter, welche auf Tuberculose suspect sind, sollten ihre Brustkinder nicht selbst nähren.
4. Augenkrankheiten spielen in der Aetiologie der habituellen Kopfschmerzen eine Rolle, welche in den gebräuchlichsten Lehrbüchern der inneren Medicin übersehen ist.
5. Gesunden oder „schwächlichen" Kindern täglich alkoholische Getränke zu geben ist schädlich.
6. Das eiskalte Bad ist bei rationeller Anwendung durchaus nicht als „chronischer Selbstmord" zu bezeichnen.
7. Die Einführung der Douchenbäder in den Gymnasien des russischen Reiches ist wünschenswert.
8. Unsere kaukasischen Curorte verdienen eine grössere Beachtung.
9. Die homoeopatischen Arzneimittel können als qualitativ und quantitativ unbestimmbare Grössen keinen Anspruch auf wissenschaftliche Existenzberechtigung machen.
10. Die von Sirus-Pirondi gegen die Seekrankheit empfohlene Einrichtung von Hängebetten nach dem Princip der Schiffslampen ist beachtenswert.
11. Der Connex zwischen Lues und Tabes findet vielleicht eine Erklärung in einer secundären Erkrankung der hinteren Gefässe des Rückenmarks.